



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 669 731 A5

⑤① Int. Cl.4: A 61 K 31/66

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑳ Gesuchsnummer: 3378/86

㉔ Anmeldungsdatum: 22.08.1986

㉓ Priorität(en): 22.08.1985 US 768394
14.04.1986 US 851914

㉒ Patent erteilt: 14.04.1989

㉑ Patentschrift
veröffentlicht: 14.04.1989

㉒ Inhaber:
Colgate-Palmolive Company, New York/NY
(US)

㉒ Erfinder:
Gaffar, Abdul, Princeton/NJ (US)

㉒ Vertreter:
E. Blum & Co., Zürich

⑤④ **Pharmazeutische Zusammensetzung zur Behandlung von Parathyreoid-Hormon induzierter Knochenresorption.**

⑤⑦ Wird Parathyreoid-Hormon im Überschuss synthetisiert, so induziert es pathologische Knochenresorption und Demineralisierung und bewirkt Hypocalcaemie, die ihrerseits toxische Effekte im Weichgewebe auslöst. Es wird eine pharmazeutische Zusammensetzung beschrieben, die als Wirkstoff nicht toxische, wasserlösliche, pharmazeutisch akzeptable Derivate der Peroxydiphosphorsäure enthält, und die bei oraler oder systemischer Verabreichung die durch Parathyreoid-Hormon induzierte Knochenresorption in vitro und in vivo bei Warmblütern inhibiert.

PATENTANSPRÜCHE

1. Pharmazeutische Zusammensetzung zur Behandlung von Parathyreoid-Hormon induzierter Knochenresorption, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff eine nicht-toxische, wasserlösliche, pharmazeutisch akzeptable Peroxydiphosphat-Verbindung enthält.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Peroxydiphosphat-Verbindung in einer Menge von etwa 0,1 bis 7% in einem pharmazeutischen Träger vorhanden ist.
3. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Peroxydiphosphat-Verbindung in Form von tablettierte Granula vorliegt, die mit einem Überzug versehen sind, der bei der Passage durch den Magen des Warmblütlers nicht abgebaut wird, und der durch die Intestinalflüssigkeit mit einem pH-Wert von 5 bis 10 aufgelöst wird.
4. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Peroxydiphosphat-Verbindung in einer Lösung von nicht-pyrogenem destilliertem Wasser und Phosphat gepuffertem Natriumchlorid vorliegt.
5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Peroxydiphosphat-Verbindung als Salz eines Alkalimetalls, von Zink, Zinn oder quaternärem Ammonium oder als C₁₋₁₂-Alkyl-, Adenyl-, Guanylyl-, Cytosyl- oder Thymylester vorliegt.
6. Zusammensetzung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Peroxydiphosphat-Verbindung als Kaliumsalz vorliegt.
7. Zusammensetzung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Peroxydiphosphat-Verbindung als C₁₋₁₂-Ester vorliegt.
8. Zusammensetzung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Peroxydiphosphat-Verbindung als Adenyl-, Guanylyl-, Cytosyl- oder Thymylester vorliegt.

BESCHREIBUNG

Die Erfindung betrifft pharmazeutische Zusammensetzungen zur Behandlung und Inhibierung von Knochenresorption und Demineralisierung, verursacht durch exzessive Sekretion von Parathyreoid-Hormon (PTH). Derartige Knochenresorption und Demineralisierung bewirken Hypocalcaemie, welche toxische Effekte im Weichgewebe auslöst.

Knochenresorption oder Demineralisierung können direkt oder indirekt als Folge von Veränderungen des Calcium- und Phosphatgehaltes in den Körperflüssigkeiten warmblütiger Tiere auftreten.

Normalerweise wird PTH in den erforderlichen physiologischen Mengen sekretiert, die zu unterschiedlichen Zeiten je nach Bedarf des Körpers variieren. Es nimmt dabei an der Regulierung der metabolischen Aktivitäten von Knochen, Nieren und der intestinalen Absorption von Calcium bei Warmblütern wie Menschen teil. Es kann jedoch zu einer exzessiven Synthese von PTH kommen, beispielsweise bei primärem Hyperparathyreoidismus, wobei pathologische Knochenresorption und Demineralisierung induziert wird. Die als Folge auftretende Hypocalcaemie hat toxische Effekte im Weichgewebe.

Ein besonders wichtiger Zustand, bei dem PTH beschleunigte Knochendemineralisierung auslöst, ist Osteoporose, die gewöhnlich bei Frauen in der Postmenopause auftritt (Calcium Tissue Intl. 35, Seiten 708–711/1983).

Es ist Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein therapeutisches Mittel zu schaffen, mit Hilfe dessen die durch PTH induzierte Knochenresorption inhibiert werden kann.

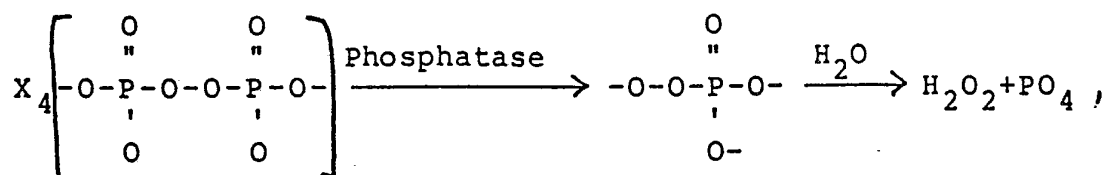
Die vorliegende Erfindung betrifft demgemäß eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Behandlung von Parathyreoid-Hormon induzierter Knochenresorption, die dadurch gekennzeichnet ist, dass sie als Wirkstoff, insbesondere zur oralen Behandlung eines warmblütigen Säugers mit Parathyreoid-Hormon-Übersekretion eine Dosismenge von etwa 0,1–6 g/kg Körpergewicht und zur systemischen Behandlung eine Dosismenge von 0,1–2 g/kg Körpergewicht, eine nicht-toxische, wasserlösliche, pharmazeutisch akzeptable Peroxydiphosphat-Verbindung enthält.

PTH und seine Wirkungen sind in «The Role of Calcium in Biological Systems», Band II, Anghileri, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1982, Kapitel II, Seiten 204–212 beschrieben. PTH ist ein einkettiges Protein, das 84 Aminosäuren enthält. Es kann als PTH (1–84) charakterisiert werden. PTH wird im Körper aus einer Vorstufe synthetisiert, die als Pro-PTH bezeichnet wird und 90 Aminosäuren enthält. Pro-PTH ist selbst ein Zwischenprodukt, das aus einem Protein mit 115 Aminosäuren synthetisiert wird und als Prä-Pro-PTH bezeichnet wird. Typischerweise wird bei Warmblütern PTH enzymatisch auf einem Syntheseweg aus seinen Vorstufen gebildet, und das PTH wird dann in den für den Körper erforderlichen Mengen in den Kreislauf sekretiert. PTH schützt den Organismus vor schwerer Hypocalcaemie. Demgemäß ist dann, wenn die zirkulierende Konzentration von ionisiertem Calcium im Kreislauf niedrig ist, die Sekretionsrate von PTH stimuliert.

Die metabolische Aktivität von Knochen, Niere und Intestinalorganen wird direkt oder indirekt durch PTH beeinflusst, um die Calciumresorption und Phosphatausscheidung zu steigern. Insbesondere Knochen wird durch PTH in einer Weise beeinflusst, die sowohl zeit- als auch dosisabhängig ist. Hohe PTH-Dosen steigern zunächst die Knochenresorptionsrate gefolgt von einem Anstieg der Knochenbildungsrate. Im frühen Stadium tritt ferner eine Steigerung der Nettoabgabe von Calcium ein, die von der Knochenresorption unabhängig ist.

Wird PTH exzessiv und nicht in Übereinstimmung mit der normalen Dosis/Zeit-Relation als Reaktion auf die metabolischen Erfordernisse sekretiert, so tritt übermäßige Knochenresorption und Demineralisierung ein, die zu Hypocalcaemie und toxischen Effekten in den Weichteilen führt.

Es ist bekannt, dass Wasserstoffperoxid Methioningruppen oxidiert. Man könnte vermuten, dass eine derartige Reaktion die PTH-Aktivität reduziert. Überraschenderweise ist jedoch die Reduktion der PTH-Aktivität, die durch Wasserstoffperoxid bewirkt wird, erheblich niedriger als diejenige, die erfindungsgemäß bei Verwendung einer Peroxydiphosphat-Verbindung erreicht wird. Darüber hinaus wirkt Peroxydiphosphat in Warmblütern sicher, kompatibel und effizient, da es enzymatisch durch alkalische und saure Phosphatasen nach der folgenden Gleichung abgebaut wird:



in der X ein nicht-toxisches, pharmazeutisch akzeptables Kation oder ein Rest einer organischen Estergruppe ist. Peroxydiphosphat abbauende Phosphatasen sind sowohl im Speichel als auch im Plasma, der Intestinalflüssigkeit und den weissen Blutkörperchen vorhanden.

Anscheinend ist die langsame Sauerstofffreisetzung zum Inhibieren der übermässigen PTH-Sekretion besonders wirksam und reduziert damit die unerwünschten und toxischen Effekte der übermässigen PTH-Sekretion.

Die Peroxydiphosphat-Verbindung (PDP) liegt als nicht-toxische, pharmazeutisch akzeptable Verbindung vor, die über die in der US-PS 4 041 149 beschriebenen Salze hinausgeht.

Die Verbindungen schliessen Alkalimetallsalze, wie beispielsweise Lithium-, Natrium- und Kaliumsalze, Erdalkalimetallsalze, wie beispielsweise Magnesium-, Calcium- und Strontiumsalze sowie Zink-, Zinnsalze und quaternäre Ammoniumsalze und ferner organische C₁₋₁₂-Alkyl-, Adenyl-, Guanylyl-, Cytosylyl- und Thymylylester von Peroxydiphosphat und dergleichen ein. Alkalimetalle, insbesondere das Kaliumsalz ist unter den anorganischen Kationen bevorzugt. Das Tetrakaliumperoxydiphosphat ist ein stabiler, geruchloser, feinteiliger, freifliessender, weisser und nicht-hygroscopischer kristalliner Feststoff mit einem Molekulargewicht von 346,35 und einem Gehalt an aktiven Sauerstoff von 4,6%.

Tetrakaliumperoxydiphosphat ist bei 0–61 °C zu 47–51% wasserlöslich, jedoch unlöslich in üblichen Lösungsmitteln wie Acetonitril, Alkoholen, Ethern, Ketonen, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid und dergleichen. Eine 2%-ige wässrige Lösung hat einen pH-Wert von etwa 9,6 und eine gesättigte Lösung besitzt einen pH-Wert von etwa 10,9. Eine 10%-ige Lösung in Wasser bei 25 °C zeigte nach 4 Monaten keinen Verlust an aktivem Sauerstoff; bei 50 °C zeigte eine 10%-ige Lösung nach 6 Monaten einen Verlust an aktivem Sauerstoff von 3%.

Unter den organischen Verbindungen sind solche bevorzugt, die hydrophobe Eigenschaften aufweisen, wie beispielsweise die C₁₋₁₂-Alkylradikale sowie solche, die die schnelle Aufnahme des Peroxydiphosphatrests durch die Zelle erleichtern, wie Adenyl-, Guanylyl-, Cytosylyl- und Thymylylester.

Die Peroxydiphosphat-Verbindung kann oral oder systemisch verabreicht werden, um die übermässige PTH-Sekretion zu inhibieren.

Geeignete pharmazeutische Träger für die orale Aufnahme sind beschichtete Tabletten, die aus einem Material gebildet sind, das beständig gegenüber Magensäuren bei den im Magen herrschenden pH-Werten ist (etwa 1–3), da das Peroxydiphosphat durch diese Magensäuren inaktiviert werden würden. Die Carrier mit dem darin eingeschlossenen festen Material aus tablettierte Granula des Peroxydiphosphorsäuresalzes werden demgegenüber von der Intestinalflüssigkeit aufgelöst, die einen höheren pH-Wert von etwa 5,5 bis 10 aufweist und die das Peroxydiphosphat nicht inaktiviert und es damit der enzymatischen Einwirkung der Phosphatase überlässt, die in Menschen oder anderen warmblütigen Tieren vorhanden ist. Eine geeignete Lösung zum Überziehen von Tabletten ist aus typischerweise etwa 40–50 und vorzugsweise etwa 45 Gewichtsteilen, eines Fettsäureesters wie N-Butylstearat, typischerweise etwa 15–25 und vorzugsweise etwa 20 Gewichtsteilen, eines Wachses wie Carnubawachs, typischerweise etwa 20–30 und vorzugsweise 25 Gewichtsteilen, einer Fettsäure wie Stearinsäure, und typischerweise etwa 5–15 und vorzugsweise etwa 10 Gewichtsteilen eines Celluloseesters wie Celluloseacetatphthalat, und typischerweise etwa 400–900 Gewichtsteilen eines organischen Lösungsmittels zusammengesetzt. Weitere geeignete

Überzugsmaterialien schliessen Schellack und Copolymere von Maleinsäureanhydrid und ethylenischen Verbindungen wie Polyvinylmethylether ein. Derartige Überzüge sind verschieden von Tabletten, die in der Mundhöhle abgebaut werden und bei denen das Tablettenmaterial im typischen Falle etwa 80–90 Gewichtsteile Mannit und etwa 30–40 Gewichtsteile Magnesiumstearat enthält.

Tabletlierte Granula des Peroxydiphosphatsalzes werden durch Mischen von etwa 30–50 Gewichtsteilen des Peroxydiphosphatsalzes mit etwa 45–65 Gewichtsteilen eines festen Polyhydroxyzuckers wie Mannit und Befeuchten mit etwa 20–35 Gewichtsteilen einer flüssigen Polyhydrozucker-Lösung wie Sorbit, Sieben zum Dimensionieren, Vermischen mit etwa 20–35 Gewichtsteilen eines Bindemittels wie Magnesiumstearat und Verpressen der Granula zu Tabletten auf einer Tablettiermaschine hergestellt. Die tablettierte Granula werden durch Aufsprühen eines Schaums einer Lösung des Überzugmaterials beschichtet und zum Entfernen des Lösungsmittels getrocknet. Derartige Tabletten sind verschieden von Dentalttabletten, die normalerweise aus tablettierte Granula ohne einen speziellen Schutzüberzug bestehen.

Eine wirksame Verabreichungsdosis von Peroxydiphosphat mit vorgeschriebenem Einnahmeschema beträgt bei oraler Applikation etwa 0,1–6 g/kg Körpergewicht täglich; bei systemischer Applikation wie intramuskulärer, intraperitonealer oder intravenöser Injektion beträgt die Dosis etwa 0,1–2 g/kg Körpergewicht täglich.

Physiologisch akzeptable, pyrogenfreie Lösungsmittel sind geeignete Träger zur systemischen Verabreichung in an sich bekannter Weise. Salzlösung, mit Phosphat auf einen physiologischen pH-Wert von etwa 7–7,4 gepuffert, ist der bevorzugte Träger für die systemische Verabreichung. Derartige Lösungsmittel sind verschieden von Wasser-Netzmittel-Vehikeln die typischerweise in Zahnpflegemitteln verwendet werden. Eine derartige Lösung wird typischerweise hergestellt, indem man entionisiertes, destilliertes Wasser sterilisiert, es unter Verwendung des Limulus-Amebocyt-Lysat-(LAL)-Tests, beschrieben von Tsuji et al in «Pharmaceutical Manufacturing», Seiten 35–41 (1984) auf fehlende Pyrogenität untersucht, anschliessend einen Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von beispielsweise etwa 8,5–10, hergestellt aus pyrogenfreiem sterilen Wasser, 1–100 mg Peroxydiphosphat-Derivat und Natriumchlorid bis zu einer Konzentration von etwa 0,5–1,5 Gew.% hinzufügt. Die Lösung kann zur Verwendung in Ampullen abgefüllt werden, nachdem sie durch Passage durch einen Mikroporenfilter resteri-
liert wurde.

Alternativ können Lösungen wie Ringer-Lösung mit einem Gehalt an 0,86 Gew.% Natriumchlorid, 0,03 Gew.% Kaliumchlorid und 0,033 Gew.% Calciumchlorid verwendet werden.

Das nachfolgende Beispiel zeigt, dass Peroxydiphosphat-Verbindungen (PDP) die Freisetzung von Calcium aus Knochen aufgrund von PTH-Sekretion inhibieren können.

Beispiel

Wirkung von PDP auf PTH induzierte

Knochenresorption in Knochenkultursystemen

Der Test, bei dem aus Rinderparathyreoiddrüsen isoliertes PTH (erhalten von Böhringer-Mannheim) die Resorption von Knochen in einem Knochenkultursystem induziert, wurde verwendet, um festzustellen, ob PDP die PTH-Aktivität bei der Knochenresorption desaktiviert.

Knochenkulturen von Rattenföten wurden wie von Raisz, in J. Clin. Invest. 44, Seiten 103–116 (1965) beschrieben, hergestellt, indem man Ratten am 18. Tag der Trächtig-

keit $^{45}\text{CaCl}_2$ injizierte. Die Ratten wurden am 19. Tag getötet und Radii und Ulnae der Embryonen mit Knorpelenden entnommen und zum Kultivieren in BGJ-Medium (Gibco, Buffalo, NY) bei 37°C mit 5% CO_2 gebracht. Das Medium wurde mit 5% erwärmtem (3 Stunden lang bei 57°C) fötalem Kalbsserum ergänzt. Jeweils 4 Knochen wurden in eine Vertiefung eines Tablett mit 24 Vertiefungen (Nunc, Gibco) eingebracht, wobei jede Vertiefung 0,5 ml Medium enthält. Die Freisetzung von ^{45}Ca in das Kulturmedium aus Knochen, die in Gegenwart einer Testsubstanz inkubiert waren, wurde verglichen mit der Freisetzung aus Knochen, die in

Kontrollmedium inkubiert waren; die Ergebnisse der Knochenresorption wurden als Relation ausgedrückt.

PTH wurde mit steriler Rinderserumalbuminlösung verdünnt. PTH wurde bei 37°C mit verschiedenen Konzentrationen von PDP als Tetrakaliumsalz behandelt. Das überschüssige PDP wurde durch Membrandialyse (maximales Molekulargewicht 3500) entfernt. Dabei kann das nicht-umgesetzte PDP nach aussen diffundieren während das PTH mit einem Molekulargewicht von mehr als 3500 innerhalb des Beutels zurückgehalten wird. Die erhaltenen Daten sind in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben.

Tabelle

Behandlung	Anzahl der Ratten	% ^{45}Ca Wiedergewinnung $\pm$ S.D.	Test/Kontrolle	Sig.
1. Kontrolle (Rinderserumalbumin)	6	$10,63 \pm 0,7$		
2. 1 $\mu\text{g}(\text{mcg})/\text{ml}$ PTH	6	$22,03 \pm 3,89$	$2,07 \pm 0,37$	
3. 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ PTH + 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ PDP	6	$9,03 \pm 2,09$	$0,41 \pm 0,09$	95%
4. 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ PTH + 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ H_2O_2	6	$13,68 \pm 0,98$	$0,62 \pm 0,04$	95%

Die in der Tabelle wiedergegebenen Daten zeigen, dass PTH verglichen mit der Kontrolle (Rinderserumalbumin) die Knochenresorption induziert, vgl. Nr. 1 gegenüber Nr. 2. Wird PTH mit PDP behandelt, so wird die Knochenresorption signifikant gesenkt, vgl. Nr. 2 gegenüber Nr. 3. Darüber hinaus ist Wasserstoffperoxid in einer Menge, die eine äquivalente Menge Sauerstoff liefert wie PDP bei der Senkung der durch PTH verursachten Knochenresorption weniger wirksam als PDP, vgl. Nr. 3 gegenüber Nr. 4.

25

Die obigen Ergebnisse sind repräsentativ für die Wirkung des PDP-Tetrakaliumsalzes und anderer nicht-toxischer wasserlöslicher, pharmazeutisch akzeptabler PDP-Salze wie anderer Alkalimetallsalze, Erdalkalimetallsalze, des Zink- und Zinnsalzes sowie der C_{1-12} -Alkyl PDP-Salze und anderer organischer PDP-Verbindungen, insbesondere einschliesslich der Adenyl-, Guanylyl-, Cytosyl- und Thymylester und quaternärer Ammonium-PDP-Salze zur Inhibierung der PTH-Sekretion bei Ratten und Säugern im allgemeinen.

40

45

50

55

60

65